

<https://doi.org/10.17590/20221020-124413>



Akuter Botulismus in deutschen Milchviehbeständen: Botulismus-Fälle des Menschen nach Verzehr von Milch und Milcherzeugnissen sind sehr unwahrscheinlich

Stellungnahme Nr. 027/2022 des BfR vom 20. Oktober 2022

Der Botulismus des Menschen ist eine schwere Erkrankung, die durch Gifte, die Botulinum-Neurotoxine (BoNT), ausgelöst wird. Sie werden vor allem von Bakterien der Spezies *Clostridium (C.) botulinum* im Lebensmittel gebildet und mit der Nahrung aufgenommen. Die Erkrankung führt in der Regel zu spezifischen neurologischen Störungen, z. B. Sehstörungen, Mundtrockenheit, Sprech- und Schluckstörungen, und kann tödlich verlaufen. Auch Tiere können erkranken, wenn sie BoNT mit dem Futter aufnehmen. Von Nutztieren sind in erster Linie Rinder betroffen. Vor diesem Hintergrund hat das Bundesinstitut für Risikobewertung (BfR) das Risiko bewertet, in Deutschland durch Milch und Milcherzeugnissen an Botulismus zu erkranken, wenn Milch gesunder Kühe verarbeitet wird, die allerdings aus einem Betrieb mit akuten Botulismus-Fällen im Milchviehbestand stammt.

In der Europäischen Union muss Rohmilch von Tieren stammen, deren allgemeiner Gesundheitszustand gut ist. Sie dürfen keine Anzeichen von Krankheiten aufweisen, welche eine Kontamination der Milch zur Folge haben könnte. In Milchviehbetrieben mit akuten Botulismus-Fällen können jedoch sowohl von gesunden als auch von kranken Rindern größere Mengen an *C. botulinum*-Sporen mit dem Kot ausgeschieden werden und beim Melken gesunder Kühe in die Tankmilch gelangen. Durch Verdünnungseffekte beim Transport und während der Verarbeitung in der Molkerei würde sich der Sporengehalt jedoch erheblich reduzieren. Zudem ist ein Auskeimen der Sporen und die Bildung von BoNT in Milcherzeugnissen, die gekühlt oder gefroren gelagert werden (z. B. pasteurisierte Milch, Milcheis), stark gesäuert sind (Sauermilcherzeugnisse) oder einen niedrigen Wasseranteil besitzen (Butter, Milchpulver), nicht zu erwarten. Deshalb sind Botulismus-Fälle nach Verzehr dieser Milcherzeugnisse sehr unwahrscheinlich. Darüber hinaus können die Sporen von *C. botulinum* durch eine mindestens dreiminütige Erhitzung auf 121 °C oder vergleichbare Erhitzungsverfahren (z.B. Sterilisation, Ultrahoherhitzung) vollständig abgetötet werden. Bei der Ultrahoherhitzung (UHT-Behandlung, engl. Ultra-high temperature) erfolgt eine kurzzeitige Erhitzung auf eine Temperatur von mindestens 135 Grad Celsius. Daher sind durch den Verzehr von UHT-Milch und daraus hergestellten Milcherzeugnissen keine Botulismus-Fälle zu erwarten.

Bisher wurden keine Botulismus-Fälle des Menschen im Zusammenhang mit dem Verzehr von Milch und Milcherzeugnissen in Deutschland berichtet. Weltweit traten einzelne Ausbrüche und Botulismus-Fälle nach dem Verzehr von Milch und Milcherzeugnissen auf. Sie wurden aber zumindest teilweise durch eine nachträgliche Kontamination und/oder fehlerhafte Lagerung verursacht. Daher schätzt das BfR das Risiko, in Deutschland durch den Verzehr von Milch und Milcherzeugnissen an Botulismus zu erkranken, als sehr gering ein. Diese Einschätzung gilt auch, wenn Milch gesunder Kühe verarbeitet wird, die aus einem Betrieb mit akuten Botulismus-Fällen im Milchviehbestand stammt. Zum Schutz vor Botulismus sollte Rohmilch, die von Verbraucherinnen und Verbrauchern ab Hof erworben wird, nicht ungekühlt gelagert werden, auch nicht zur Herstellung von Milcherzeugnissen. Darüber hinaus sollte Rohmilch ab Hof zum Schutz vor Lebensmittelinfektionen grundsätzlich vor dem Verzehr abgekocht werden.

 BfR-Risikoprofil: Verzehr von Milch gesunder Kühe aus Milchviehbeständen mit Fällen von akutem Botulismus und daraus hergestellten Milcherzeugnissen	
A Betroffen sind	Allgemeinbevölkerung 
B Wahrscheinlichkeit einer gesundheitlichen Beeinträchtigung bei Verzehr von Milch gesunder Kühe aus Milchviehbeständen mit Fällen von akutem Botulismus und daraus hergestellten Milcherzeugnissen	Sehr niedrig Niedrig Mittel Hoch Sehr hoch
C Schwere der gesundheitlichen Beeinträchtigung bei Verzehr von Milch gesunder Kühe aus Milchviehbeständen mit Fällen von akutem Botulismus und daraus hergestellten Milcherzeugnissen	Keine Beeinträchtigung Leichte Beeinträchtigung [reversibel/irreversibel] Mittelschwere Beeinträchtigung [reversibel/irreversibel] Schwere Beeinträchtigung [reversibel/irreversibel]
D Aussagekraft der vorliegenden Daten	Hoch: Die wichtigsten Daten liegen vor und sind widerspruchsfrei Mittel: Einige wichtige Daten fehlen oder sind widersprüchlich Gering: Zahlreiche wichtige Daten fehlen oder sind widersprüchlich
E Kontrollierbarkeit durch Verbraucher	Kontrolle nicht notwendig Kontrollierbar durch Vorsichtsmaßnahmen Kontrollierbar durch Verzicht Nicht kontrollierbar

Erläuterungen

Das Risikoprofil soll das in der BfR-Stellungnahme beschriebene Risiko visualisieren. Es ist nicht dazu gedacht, Risikovergleiche anzustellen. Das Risikoprofil sollte nur im Zusammenhang mit der Stellungnahme gelesen werden.

BUNDESINSTITUT FÜR RISIKOBEWERTUNG (BfR)

Erläuterungen:

Zeile B – Wahrscheinlichkeit einer gesundheitlichen Beeinträchtigung

Die Sporen von *C. botulinum* werden durch Verdünnungseffekte beim Transport und während der Verarbeitung in der Molkerei erheblich reduziert. Zudem ist ein Auskeimen der Sporen und die Bildung von BoNT in Milcherzeugnissen, die gekühlt oder gefroren gelagert werden (z. B. pasteurisierte Milch, Milcheis), stark gesäuert sind (Sauermilcherzeugnisse) oder einen niedrigen Wasseranteil besitzen (Butter, Milchpulver) sehr unwahrscheinlich. Darüber hinaus können die Sporen von *C. botulinum* durch eine sachgerecht durchgeführte Ultrahoherhitzung (UHT-Behandlung, engl. Ultra-high temperature) vollständig abgetötet werden.

Zeile C – Schwere der gesundheitlichen Beeinträchtigung:

Botulismus beim Menschen beginnt üblicherweise mit unspezifischen Symptomen, wie Übelkeit, Erbrechen und Magen-Darm-Störungen. Danach zeigen sich spezifischere Symptome wie Doppelsehen, Pupillenstarre, Sprachstörungen und später Atemlähmung und Erstickten bei vollem Bewusstsein. Der Tod kann innerhalb von 24 Stunden nach Erkrankungsbeginn eintreten.

Zeile D – Aussagekraft der vorliegenden Daten

Mit Blick auf die vorliegenden Studien und Daten bestehen Unsicherheiten bei der Schätzung der Menge an *C. botulinum*-Sporen im Rinderkot und in der Tankmilch von Milchviehbeständen mit akuten Botulismus-Fällen sowie hinsichtlich der Vermehrung und Toxinbildung von *C. botulinum* in Milcherzeugnissen. Darüber hinaus sind Daten zum Vorkommen der BoNT vorsichtig zu bewerten, sofern für deren Nachweis andere als das Referenzverfahren (Maus-Bioassay) angewandt wurden. In der Literatur besteht dennoch Einigkeit darüber, dass Milch und Milcherzeugnisse sehr selten mit Botulismus-Fällen des Menschen assoziiert sind.

Zeile E - Kontrollierbarkeit durch Verbraucher

Verbraucherinnen und Verbraucher sollten zum Schutz vor Botulismus Rohmilch nicht ungekühlt lagern, auch nicht zur Herstellung von Milcherzeugnissen. Darüber hinaus sollte zum Schutz vor Lebensmittelinfektionen Rohmilch ab Hof vor dem Verzehr abgekocht werden.

1 Gegenstand der Bewertung

Beim Auftreten von Botulismus-Fällen bei Milchkühen stellt sich die Frage, wie mit der im landwirtschaftlichen Betrieb gewonnenen Rohmilch der nicht erkrankten Tiere und den daraus hergestellten Milcherzeugnissen¹ umzugehen ist. Deshalb hat das Bundesinstitut für Risikobewertung (BfR) eine Risikobewertung durchgeführt, um die Frage zu beantworten, ob möglicherweise in der Milch vorkommende Botulinum-Neurotoxine (BoNT) durch eine Ultra-hocherhitzung (UHT-Behandlung, engl. Ultra-high temperature) sicher inaktiviert werden.

In der Verordnung (EG) Nr. 853/2004 sind Hygienevorschriften für die Erzeugung von Rohmilch und Kolostrum festgelegt (Anhang III Abschnitt IX Kapitel I)^[1]. Danach müssen Rohmilch und Kolostrum von Tieren stammen, deren allgemeiner Gesundheitszustand gut ist und die keine Anzeichen von Krankheiten aufweisen, welche eine Kontamination der Milch und des Kolostrums zur Folge haben könnten.

Vorschriften für die Ultrahocherhitzung finden sich in Anhang III Abschnitt IX Kapitel II der Verordnung (EG) Nr. 853/2004. Dort ist festgelegt, dass die kontinuierliche Wärmezufuhr bei hoher Temperatur für kurze Zeit (nicht weniger als 135 °C bei geeigneter Heißhaltezeit) sicherstellen muss, dass bei Aufbewahrung in einer sterilen verschlossenen Packung bei Umgebungstemperatur keine lebensfähigen Mikroorganismen oder Sporen vorhanden sind, die sich im behandelten Erzeugnis vermehren können.

Neben *Clostridium (C.) botulinum* besitzen auch einige *C. butyricum*- und *C. baratii*-Stämme die Fähigkeit, BoNT zu bilden. Da Letztere von untergeordneter Bedeutung sind, hat sich das BfR in seiner Bewertung auf das fragliche Vorkommen von *C. botulinum* und dessen BoNT beim Rind sowie in Kuhmilch und daraus hergestellten Milcherzeugnissen beschränkt.

Die nachfolgende Stellungnahme beschreibt das Risiko, in Deutschland durch den Verzehr von Milch und Milcherzeugnissen an Botulismus zu erkranken, wenn Milch gesunder Kühe verarbeitet wird, die aus einem Betrieb mit akuten Botulismus-Fällen im Milchviehbestand² stammt.

2 Ergebnis

Botulismus beim Menschen wird hauptsächlich durch BoNT A oder B, seltener durch BoNT E oder F hervorgerufen. Hingegen wird der Botulismus beim Rind überwiegend durch BoNT C oder BoNT D ausgelöst, welche bisher nur selten mit Botulismus-Fällen des Menschen in Verbindung gebracht wurden. Die Krankheitssymptome sind unter anderem abhängig von der Menge der aufgenommenen BoNT.

Zum Botulismus des Rindes kann es kommen, wenn sich *C. botulinum*-Zellen im Futter vermehren und dabei BoNT bilden. Eine Ansiedlung und Vermehrung von *C. botulinum* im Magen-Darm-Trakt des Rindes ist sehr unwahrscheinlich. Die mit dem Futter aufgenommenen

¹ „Milcherzeugnisse“ sind Verarbeitungserzeugnisse aus der Verarbeitung von Rohmilch oder der Weiterverarbeitung solcher Verarbeitungserzeugnisse (s. Anhang I zur Verordnung (EG) Nr. 853/2004).

² In dieser Stellungnahme umfasst ein Milchviehbestand eine Gruppe von Milchkühen inklusive weiterer Rinder, die in einem Betrieb als epidemiologische Einheit gehalten wird und insbesondere das gleiche Futter erhält.

Sporen werden jedoch mit dem Kot ausgeschieden und könnten über eine fäkale Kontamination in die Rohmilch gelangen. Bisher liegen keine Anhaltspunkte für eine direkte Sekretion der Toxine über das Euter in die Milch vor. Da BoNT während der Passage durch den Magen-Darm-Trakt des Rindes abgebaut werden, ist es zudem sehr unwahrscheinlich, dass BoNT mit dem Kot ausgeschieden und durch fäkale Verunreinigung in die Rohmilch gelangen.

Ausgeschlossen werden kann außerdem ein direkter Eintrag von *C. botulinum* (vegetative Zellen und Sporen) aus dem Euter in die Milch. In einem Betrieb mit akuten Botulismus-Fällen im Milchviehbestand besteht jedoch die Möglichkeit, dass sowohl von gesunden als auch von kranken Rindern größere Mengen an *C. botulinum*-Sporen mit dem Kot ausgeschieden werden und beim Melken der gesunden Kühe in die Tankmilch gelangen. Darunter könnten auch *C. botulinum*-Sporen der Typen A, B, E oder F sein, die für den Menschen eine Gefahr darstellen. Deshalb ist es möglich, dass die Tankmilch aus diesen Betrieben größere Mengen an *C. botulinum*-Sporen (geschätzte Gehalte bis zu 100 Sporen/ml) enthält als die Milch aus Betrieben ohne akute Botulismus-Fälle. Die Abschätzung der möglichen Sporengehalte ist mit großen Unsicherheiten verbunden.

Durch Verdünnungseffekte beim Transport und während der Verarbeitung in der Molkerei würde der Sporengehalt erheblich reduziert werden. Aufgrund der großen Thermostabilität der Sporen sind das Abkochen der Rohmilch ab Hof und die üblichen Wärmebehandlungsverfahren zur Herstellung von pasteurisierter Milch, Sauermilcherzeugnissen, Butter, Milchpulver oder Käse allerdings nicht geeignet, um vorhandene *C. botulinum*-Sporen abzutöten.

Das Risiko der Bevölkerung für eine Erkrankung durch in Milch vorhandene BoNT ist abhängig von der weiteren Verwendung der Rohmilch und von den BoNT-Typen. Ein Auskeimen von *C. botulinum*-Sporen und die BoNT-Bildung ist in Milcherzeugnissen, die gekühlt oder gefroren gelagert werden (z. B. pasteurisierte Milch, Milcheis), stark gesäuert sind (Sauermilcherzeugnisse) oder einen niedrigen Wassergehalt besitzen (Butter, Milchpulver), nicht zu erwarten. Deshalb sind Botulismus-Fälle nach Verzehr dieser Milcherzeugnisse sehr unwahrscheinlich.

Hingegen könnten bei der Käseherstellung begünstigende Bedingungen für ein Auskeimen von Sporen und die Vermehrung von *C. botulinum* sowie die BoNT-Bildung auftreten. In Deutschland ist jedoch zu erwarten, dass der anaerobe Sporengehalt in der Käseemilch im Rahmen der gewerblichen Käseherstellung kontrolliert bzw. zur Vermeidung von Käsefehlern generell durch technologische Verfahren reduziert wird. Botulismus-Fälle des Menschen wären deshalb sehr unwahrscheinlich. Sie könnten nur in extrem seltenen Ausnahmesituationen in Abhängigkeit vom gebildeten Toxin und verzehrten Milcherzeugnis auftreten und tödlich verlaufen.

Eine sachgerecht durchgeführte UHT-Behandlung ist zur vollständigen Abtötung von *C. botulinum*-Sporen geeignet. Daher sind durch den Verzehr von UHT-Milch oder daraus hergestellten Milcherzeugnissen keine Botulismus-Fälle zu erwarten. Bei hohem Sporengehalt in der Rohmilch und nicht sachgerecht durchgeführter UHT-Behandlung sowie anschließender, längerfristiger Lagerung der Milcherzeugnisse bei Raumtemperatur könnten überlebende Sporen auskeimen, sich vermehren und BoNT bilden. Allerdings würden sich bei diesen Bedingungen auch aerobe Sporenbildner vermehren können und mit hoher Wahrscheinlichkeit

zu einem Verderb der UHT-Milcherzeugnisse führen, so dass ein Verzehr unwahrscheinlich wäre.

Bisher wurden keine Botulismus-Fälle des Menschen im Zusammenhang mit dem Verzehr von Milch und Milcherzeugnissen in Deutschland berichtet. Weltweit traten zwar einzelne Ausbrüche und Botulismus-Fälle nach dem Verzehr von Milch und Milcherzeugnissen auf. Sie wurden aber zumindest teilweise durch eine nachträgliche Kontamination und/oder fehlerhafte Lagerung verursacht. Deshalb schätzt das BfR das Risiko, in Deutschland durch den Verzehr von Milch und Milcherzeugnissen an Botulismus zu erkranken, als sehr gering ein. Diese Einschätzung gilt auch, wenn Milch gesunder Kühe verarbeitet wird, die aus einem Betrieb mit akuten Botulismus-Fällen im Milchviehbestand stammt.

Das verbleibende Risiko ließe sich durch folgende Maßnahmen noch weiter minimieren:

- Gute Silage-Qualität
- Gute Melkhygiene
- Technologische Reduktion und Kontrolle der anaeroben Sporengehalte in der Käse-reimilch
- UHT-Behandlung (Ultrahoherhitzung) der Tankmilch aus einem Betrieb mit akuten Botulismus-Fällen im Milchviehbestand während des Ausbruchs und für mindestens einen Monat nach dessen Ende vor der weiteren Verarbeitung
- Kein Verkauf von Rohmilch direkt an Verbraucherinnen und Verbraucher während des Ausbruchs im Milchviehbestand und für mindestens zwei Monate nach dessen Ende.

Außerdem rät das BfR, die vielversprechenden Arbeiten zum Ersatz des Maus-Bioassays als Nachweismethode für BoNT fortzuführen. Dies ist eine wichtige Voraussetzung, um durch geeignete Studien bestehende Datenlücken schließen zu können.

3 Begründung

3.1.1 Gefahrenidentifizierung

3.1.1.1 *Clostridium (C.) botulinum* und Botulinum-Neurotoxine (BoNT)

C. botulinum ist ein grampositives, strikt anaerob wachsendes sporenbildendes Stäbchenbakterium. Seine Sporen lassen sich im Erdboden, in Sedimenten von Gewässern und in praktisch allen Lebensmitteln tierischen und vor allem pflanzlichen Ursprungs nachweisen [2]. Es wird außerdem im Magen-Darm-Trakt gesunder Menschen und Tiere nachgewiesen.

C. botulinum-Stämme werden in die metabolischen Gruppen I bis IV eingeteilt. Von den vier metabolischen Gruppen sind aber nur die Gruppen I (proteolytisch) und II (nicht-proteolytisch) lebensmittelhygienisch relevant. Unter anaeroben Bedingungen und bei ausreichendem Nährstoffangebot sind die Bakterien in der Lage, während der Vermehrung BoNT zu bilden. Die klassischen Toxine werden mit den Buchstaben A bis G bezeichnet. *C. botulinum*-Stämme können nach dem von ihnen gebildeten Toxintyp benannt werden (z. B. *C. botulinum* Typ A für einen *C. botulinum*-Stamm, der das Toxin des Typs A bildet).

3.1.1.1.2 Vegetative Zellen

Die proteolytischen Stämme der Gruppe I vermehren sich bei Temperaturen zwischen 10 °C und 42 °C und unter strikt anaeroben Bedingungen ab einem pH von 4,6. Das Wachstum nicht-proteolytischer Stämme der Gruppe II wird erst unterhalb von 3,3 °C unterdrückt^[2]. Stämme der Gruppe III treten hauptsächlich beim Botulismus von Wasser- und Hausgeflügel (Typ C) sowie bei weiteren (Haus-)Säugetieren (Typ C und D) in Erscheinung^[3,4].

Die vegetativen Zellen sind wenig resistent gegen Umwelteinflüsse und überleben die Anwesenheit von Sauerstoff und/oder höhere Temperaturen von 50–60 °C nicht^[5]. In der Praxis hat dies nur eine untergeordnete Bedeutung, weil Lebensmittel überwiegend mit hitzeresistenten Sporen kontaminiert werden^[6].

3.1.1.1.2 Sporen

Die Sporen von *C. botulinum* sind sehr hitzeresistent und werden erst bei Temperaturen über 100 °C sicher inaktiviert. Als Präventionsmaßnahme werden Konserven bei der Herstellung ausreichend erhitzt (sog. Botulinumkochung, 121 °C für 3 Minuten). Sporen von Stämmen der Gruppe I sind deutlich hitzeresistenter als von Stämmen der Gruppe II. Angaben zu D³- und z-Werten⁴ finden sich in Übersichten von Brown^[7] und van Asselt et al. sowie in Veröffentlichungen von Stone et al. und Diao et al.^[8-10]. Bei nicht oder nicht ausreichend hitzebehandelten Lebensmitteln muss besonderer Wert auf die Einhaltung der Kühlkette gelegt werden, da die Auskeimung von Sporen durch Kühlung verzögert oder unterbunden werden kann^[11].

Klassisches Beispiel für Lebensmittel, deren Verzehr zu Botulismus führte, sind im Privathaushalt hergestellte Gemüse- oder Fleischkonserven, welche nicht ausreichend erhitzt wurden. Unter strikt anaeroben Verhältnissen können überlebende Sporen dann zu vermehrungsfähigen Zellen auskeimen, die BoNT bilden.

3.1.1.1.3 BoNT

Über die klassischen Toxintypen hinaus (Typ A-G) wird seit einigen Jahren über einen weiteren Toxintyp (H) diskutiert. Für diesen Typ wird in der Literatur auch die Bezeichnung BoNT FA vorgeschlagen, da er genetisch sowohl vergleichbare Regionen von BoNT A1 als auch von BoNT F5 enthält und Antitoxin gegen Typ A zur Neutralisation führt. Er ist deshalb nach der Ansicht einiger Autorinnen und Autoren nicht als eigenständiger Toxintyp anzusehen^[12,13].

Sequenzunterschiede auf Nukleotid- und Aminosäureebene innerhalb der Serotypen A, B, E und F führten zu einer weiteren Unterteilung dieser Serotypen in Subtypen. Unter Berücksichtigung der Mosaikformen der Serotypen C und D sind mehr als 30 Subtypen bzw. genetische Varianten bekannt^[14]. *C. botulinum* ist weltweit verbreitet, wobei in verschiedenen geographischen Regionen Toxinbildner unterschiedlichen Typs vorkommen können. Der Toxintyp E wird in der Regel mit einem aquatischen Milieu in Verbindung gebracht^[15].

³ Der D-Wert ist die Zeitspanne, die bei einer gegebenen Temperatur zur Reduktion einer Mikroorganismenpopulation auf 10 % erforderlich ist.

⁴ Der z-Wert ist die Temperaturerhöhung, die erforderlich ist, um die Abtötungszeit auf 1/10 zu verringern.

Die gebildeten Toxine sind relativ hitzeempfindlich^[16,17]. Es ist davon auszugehen, dass BoNT durch Erhitzung für 20 min bei 80 °C oder für 5 min bei 85 °C inaktiviert werden^[18].

3.1.2 Gefahrencharakterisierung

3.1.2.1 Botulismus des Menschen

C. botulinum bildet Neurotoxine, deren Toxizität sehr hoch ist. Die durch diese Toxine hervorgerufene Vergiftung wird als Botulismus bezeichnet. Der Botulismus beim Menschen wird hauptsächlich durch BoNT A oder B, seltener durch BoNT E oder F hervorgerufen. BoNT C und BoNT D werden häufig mit Botulismus bei Rindern und Geflügel assoziiert. Erkrankungen des Menschen mit BoNT C oder D sind nur selten beschrieben.

Rasetti-Escagueil et al. ^[19] berichten in einem Review, dass zu lediglich acht Ausbrüchen mit insgesamt 15 Erkrankungsfällen Veröffentlichungen über Typ C Botulismus des Menschen vorliegen, wobei manchmal nur ein Erkrankungsfall aufgetreten ist. Nur in vier dieser Ausbrüche (8 Erkrankungsfälle) wurde Typ C Botulismus auch bestätigt. Auslösende oder als Auslöser vermutete Lebensmittel waren Fleischerzeugnisse (Paté, Geflügelprodukte) oder die ursprünglichen Lebensmittel konnten nicht ermittelt werden. Bei einem Erkrankungsfall handelte es sich um Säuglingsbotulismus, bei dem ein Eintrag aus der Umgebung vermutet wurde. Humane Erkrankungsfälle durch BoNT D wurden nur in einem Ausbruchsgeschehen berichtet. Hierbei erkrankten acht Personen nachdem sie im Privathaushalt hergestellten gesalzenen Schinken verzehrt hatten. Nur zwei Erkrankte zeigten Symptome, die für Botulismus typisch sind. Die anderen Personen zeigten eher unspezifische Symptome, sodass vermutet wurde, dass sie durch andere Pathogene erkrankt sein könnten. In dem verzehrten Schinken konnte *C. botulinum* Typ D isoliert werden. Die Autorin merkt an, dass die meisten dieser Ausbrüche bereits vor 1970 stattfanden und die Typisierung von *C. botulinum* zu dieser Zeit noch nicht genau definiert war^[19]. Trotz seiner Toxizität wurde BoNT G bisher nur in einem Bericht mit humanem Botulismus in Verbindung gebracht. Hierin wird berichtet, dass in der Schweiz bei fünf Personen, deren Todesursachen ungeklärt waren, im Rahmen von nachträglich durchgeführten Analysen bei allen Personen *C. botulinum* Typ G und bei drei Personen auch BoNT G nachgewiesen wurden^[20,21].

BoNT werden vom Menschen über den Verzehr von kontaminierten Lebensmitteln aufgenommen, eine Übertragung von Mensch zu Mensch findet nicht statt. Die klinischen Symptome beginnen nach einer Latenzzeit von 12 Stunden bis zu wenigen Tagen zunächst unspezifisch mit Übelkeit, Erbrechen und Magen-Darm-Störungen. Dann zeigen sich die für den humanen Botulismus spezifischeren Symptome wie Doppelsehen, Pupillenstarre, Sprachstörungen und später Atemlähmung und Ersticken bei vollem Bewusstsein. Der Tod kann innerhalb von 24 Stunden nach Erkrankungsbeginn eintreten^[15]. BoNT sind Neurotoxine, welche die Freisetzung des gebundenen Neurotransmitters Acetylcholin im peripheren Nervensystem verhindern und zu Lähmungserscheinungen führen. BoNT A verfügt über die höchste Toxizität beim Menschen. Es handelt sich um die giftigste bekannte Substanz. Die mittlere letale Dosis (LD50) des Gifts liegt bei oraler Aufnahme beim Menschen schätzungsweise bei 1 µg pro kg Körpergewicht^[15].

Darüber hinaus kommen bei Kleinkindern im Alter von bis zu 12 Monaten Fälle des Säuglingsbotulismus vor. Dabei keimen mit der Nahrung aufgenommene Sporen von *C. botulinum* im Darm aus, vermehren sich aufgrund der noch unzureichend entwickelten Darmflora und bilden Toxine. Die Hauptinfektionsquelle ist Honig^[2]. Auch in Deutschland wurden in den letzten Jahren einzelne Fälle von Säuglingsbotulismus gemeldet^[22-33].

Eine weitere Erkrankungsform ist der Wundbotulismus. Dieser kann auftreten, wenn *C. botulinum* über Wunden in den Körper gelangt und unter anaeroben Bedingungen Toxine bildet, die dann in den Blutkreislauf gelangen. Gelegentlich treten solche Erkrankungsformen bei drogenabhängigen Personen auf, wenn es durch kontaminierte Nadeln zu einer Übertragung der Bakterien kommt^[33].

In Deutschland wurden in den Jahren 2009 bis 2020 insgesamt 72 Erkrankungsfälle von humanem Botulismus an das Robert Koch-Institut (RKI) übermittelt. Hiervon wurden 51 Erkrankungen als durch Lebensmittel übertragen bewertet. Dies entspricht bis zu neun Erkrankungsfällen pro Jahr^[22-33]. Auf europäischer Ebene geben die jährlich erscheinenden Zoonosen-Berichte^[34-40] einen Überblick über das Auftreten von lebensmittelbedingten Erkrankungen und Krankheitsausbrüchen. Für die Jahre 2011 bis 2020 wurden der Europäischen Behörde für Lebensmittelsicherheit (EFSA) insgesamt 116 Krankheitsausbrüche durch *C. botulinum* bzw. dessen Toxine übermittelt, davon 74 mit einer hohen Evidenz. Bei diesen Ausbrüchen erkrankten mindestens 308 Personen und es wurden mindestens 242 Personen hospitalisiert, mindestens sechs Personen starben. Humane Botulismus-Ausbrüche durch den Verzehr von Milch oder Milcherzeugnissen wurden der EFSA im o. g. Zeitraum nicht übermittelt.

Über humane Botulismus-Ausbrüche bzw. -Einzelfälle durch Milch oder Milcherzeugnisse liegen nur wenige Veröffentlichungen vor. In einem Review von Lindström et al.^[20] werden weltweit insgesamt 20 Ausbrüche aufgeführt, von denen die Hälfte aus den USA stammen. Bei zehn Ausbrüchen wurde *C. botulinum* Typ A und bei sieben Ausbrüchen Typ B ermittelt, bei drei Ausbrüchen wurde kein Toxintyp angegeben. Nur bei zwei Ausbrüchen wird als Vehikel Milch angegeben. Über diese in den Jahren 1920 und 1931 in den USA aufgetretenen Milch-Ausbrüche ist wenig bekannt, so dass auch eine Kontamination der Milch nach dem Öffnen der Verpackung ursächlich sein könnte.

Im Jahr 1996 kam es in Italien zu einem Ausbruch nach dem Verzehr von Mascarpone und mit Mascarpone hergestellten Produkten. In dem Mascarpone konnten sowohl *C. botulinum* Typ A als auch BoNT A nachgewiesen werden^[41,42]. Da alle Umfelduntersuchungen in der Produktionsstätte *C. botulinum*- und BoNT-negativ waren^[41], wurde ein Eintrag von *C. botulinum* über die zur Herstellung verwendete Milch oder Sahne vermutet^[42]. Weiterhin wurde angenommen, dass schwere Temperaturfehler bei der Herstellung und Lagerung des Käses zu einer Vermehrung der eingetragenen *C. botulinum*-Zellen/Sporen mit anschließender Toxinproduktion geführt haben könnten^[20]. Aus den Erkenntnissen der wenigen bisher veröffentlichten Studien schließen Lindström et al.^[20], dass es ein Risiko für Botulismus durch den Verzehr von Milcherzeugnissen gibt, dieses jedoch relativ gering zu sein scheint.

Seit dem Jahr 2000 wurden insgesamt lediglich drei Milch-assoziierte Botulismus-Ausbrüche aus Großbritannien (Säuglingsnahrung), der Türkei (im Privathaushalt hergestellter Joghurt) und aus Australien (Nachos mit Käse) berichtet^[20].

3.1.2.2 Botulismus des Rindes

Wiederkäuer sind für Botulismus empfänglich. Hierbei spielen vor allem BoNT C und D, seltener auch BoNT A oder B eine Rolle. Rinder reagieren auf BoNT empfindlicher als kleine Wiederkäuer (Schafe und Ziegen). Da Botulismus bei Tieren nicht zu den anzeigepflichtigen Tierseuchen oder meldepflichtigen Tierkrankheiten gehört, gibt es für Deutschland oder Europa keine Statistiken zur Häufigkeit. Es handelt sich bei Botulismus-Ausbrüchen jedoch zu meist um seltene Ereignisse mit großer Bedeutung für einzelne Bestände. Botulismus wird

nicht von Tier zu Tier übertragen. Vielmehr vergiften sich die Tiere eines Bestandes akut innerhalb eines kurzen Zeitraumes durch die Aufnahme kontaminierten Futters^[5]. Der Botulismus des Rindes kann vor allem dann auftreten, wenn sich *C. botulinum*-Zellen in unzureichend fermentierter Silage vermehren und BoNT bilden ^[43].

Ausbrüche durch BoNT B wurden auch durch andere Futtermittel als Grassilage verursacht, wie z. B. durch kontaminierten Biertreber^[44]. Beim Botulismus des Rindes durch BoNT C oder D wurden auch Zusammenhänge mit Geflügelkot beschrieben^[4,20,45,46].

Die Krankheitserscheinungen beim Rind äußern sich in den meisten Fällen in zunehmenden Schwierigkeiten bei der Futter- und Wasseraufnahme, die auf Lähmungen der Zungen-, Kau- und Rachenmuskulatur beruhen. Durch die fortschreitenden Muskellähmungen kann es zum Festliegen der Tiere und schließlich zum Tod durch Atemlähmung kommen^[47]. Bei Rindern beträgt die Mortalität zwischen 90 und 95 %^[5], was zu massiven wirtschaftlichen Verlusten in den Beständen führen kann. In sehr seltenen Fällen kommt es zu mildereren Verläufen, in denen sich die Tiere nach wenigen Tagen zu erholen beginnen. Berichten zufolge erreichen diese Tiere nach Überstehen der Krankheit nie wieder ihre volle Produktivität^[48].

In der Vergangenheit wurden Vermutungen über eine neue Form des Botulismus („viszeraler“ oder „chronischer Botulismus“) angestellt. Leitbild dieser vermeintlichen Toxikoinfektion seien eine Reihe von unspezifischen Symptomen, die mit Leistungseinbußen einhergehen. Ursächlich sollte hier eine Dysbiose (= Ungleichgewicht der bakteriellen Darmflora) sein, welche eine Vermehrung und Toxinbildung von *C. botulinum* im Darm betroffener Kühe ermöglichen sollte^[49]. Wissenschaftlich konnte ein Zusammenhang zwischen dem unspezifischen Krankheitsgeschehen und *C. botulinum* jedoch nie bestätigt werden. Auch in groß angelegten Studien der Stiftung Tierärztliche Hochschule Hannover und des Friedrich-Löffler-Instituts (FLI) konnte die Theorie des „chronischen Botulismus“ nicht bestätigt werden. Es ist davon auszugehen, dass es sich bei dem beschriebenen Krankheitsbild eher um eine multifaktorielle Erkrankung handelt^[50,51].

3.1.3 Expositionsschätzung und -bewertung

Die Expositionsabschätzung betrachtet für jedes als Gefahr identifizierte Agens dessen initiale Konzentration im Rohprodukt und alle Prozesse, die zu einer Vermehrung oder Inaktivierung des Agens im Laufe der Lebensmittelherstellung führen.

Alle im Rahmen der nachfolgenden Expositionsabschätzung betrachteten Agenzien (BoNT, *C. botulinum*-Zellen/Sporen) können auf verschiedenen Wegen in die Rohmilch gelangen: Entweder direkt aus dem Euter der Kuh beim Melken oder indirekt durch einen Eintrag aus der Umwelt (z. B. beim Melken äußerlich verschmutzter Euter).

3.1.3.1 Direkter Eintrag der Agenzien aus dem Euter in die Rohmilch

Bisher gibt es lediglich zwei Studien, die auf ein Vorkommen von *C. botulinum* und dessen BoNT in Milch und/oder Euter von Kühen hinweisen. Im Jahr 2002 wiesen Böhnelt et al.^[52] BoNT B im Euter einer erkrankten Kuh nach. Das Tier war jedoch an einem anderen Toxintyp (BoNT C/D) erkrankt und BoNT B wurde nur in einem einzelnen durch Mastitis veränderten Euterviertel gefunden. Es ist daher unwahrscheinlich, dass das BoNT B vom erkrankten Tier in die Milch sezerniert wurde. Wahrscheinlicher ist, dass es sich hierbei um eine Kontamination des Euterviertels von außen handelte, oder ein methodischer Fehler vorlag. Böhnelt

und Gessler^[53] gaben in einer zweiten Studie an, *C. botulinum* und BoNT (human- und tierpathogen) in Milch- und Euterproben nachgewiesen zu haben. Diese Studie weist methodische Mängel auf: Informationen zur Entnahme, Lagerung und Behandlung der Proben sind unvollständig und Informationen über Negativkontrollen fehlen vollständig. Außerdem wurde, entgegen den allgemeinen Anforderungen zur Durchführung aussagekräftiger Assays ^[54-57], offensichtlich nur ein Maus-Bioassay pro Probe durchgeführt. Die Autoren selbst erklären in dem Manuskript, dass ihre Studie zur Ableitung einer Risikobewertung ungeeignet sei. Zudem geben sie an, dass der Ursprung von *C. botulinum* und der BoNT in den Milch- und Euterproben nicht bekannt ist, da sie bei den genommenen Proben weder den Krankheitsstatus der Tiere, noch andere relevante Daten erhoben haben. Bislang gibt es also keine haltbaren Hinweise darauf, dass *C. botulinum* oder BoNT von erkrankten Kühen direkt in die Milch sezerniert werden^[58,59].

3.1.3.2 Indirekter Eintrag der Agenzien in die Rohmilch

Da *C. botulinum*-Sporen, vegetative Zellen oder BoNT über Futtermittel aufgenommen werden und in den Verdauungstrakt der Kühe gelangen können, stellt sich die Frage, ob diese Agenzien auch über den Kot der Tiere in die Umwelt und damit beim Melkvorgang in die Rohmilch gelangen könnten. Zur Abschätzung der Mengen an Agenzien, die über derartige Eintragswege in die Rohmilch gelangen könnten, sind Daten über das Vorkommen von *C. botulinum* und dessen BoNT in Kot von Rindern relevant.

3.1.3.2.1 Vorkommen der Agenzien in Darminhalten und Rinderkot

In einer Fallstudie aus den Niederlanden, in der mehrere Milchviehbetriebe von Botulismus durch BoNT B betroffen waren^[44], konnten große Mengen von *C. botulinum* Typ B-Sporen im Rinderkot nachgewiesen werden (10^5 – 10^7 pro Gramm). Auch acht Wochen nach dem Ausbruch wurden noch *C. botulinum* Typ B-Sporen, wenn auch in geringeren Mengen, im Kot von gesunden Kühen dieser Betriebe nachgewiesen.

In einer schwedischen Studie wurden in Schlachthöfen entnommene Kotproben gesunder Rinder auf das Vorkommen von *C. botulinum* Typ B, E und F untersucht^[60]. Hier zeigte sich eine hohe Nachweisrate von 73,33 % (44/60) für Sporen von *C. botulinum* Typ B, wobei die meisten Proben nur einen geringen Gehalt von weniger als vier Sporen pro Gramm Kot aufwiesen. Sporen von *C. botulinum* der anderen betrachteten Toxintypen E und F konnten nicht nachgewiesen werden.

Eine ägyptische Studie untersuchte den Kot von gesunden Rindern, Büffeln, Schafen und Ziegen auf humanpathogene *C. botulinum* Typen^[61]. Sie konnten *C. botulinum* Typ A mit sehr geringer Häufigkeit von 2–5,8 % in den Kotproben aller Tierarten finden (Rinder und Büffel je 1/50, Ziegen 1/51, Schafe 3/52). Aufgrund der abweichenden Fütterungs-, Haltungs- und Umweltbedingungen von milchgebenden Wiederkäuern in Ägypten, ist die Bedeutung dieser Studie für Milchrinder in Deutschland jedoch gering.

Schmid et al.^[62] konnten in 292 Kotproben gesunder Rinder in Deutschland kein *C. botulinum* (Typen A-F) nachweisen.

In einer groß angelegten Studie des FLI^[51,63], in der 1.388 Kotproben von Rindern aus Deutschland untersucht wurden, ließen sich in 7,9 % (109/1.388) der Proben BoNT-Gene detektieren. Diese Gene gehörten zu den humanpathogenen Toxintypen A (86/109), B (8/109), E (1/109) und F (5/109) und dem tierpathogenen Toxintyp D (9/109). Alle Kotproben

wurden auch auf bereits gebildete BoNT untersucht, welche aber in keiner Probe gefunden wurden. Untersuchungen haben gezeigt, dass die Bakterien im Pansen von Rindern und Schafen in der Lage sind, BoNT abzubauen^[64], was deren Abwesenheit trotz des Nachweises von BoNT-Genen erklären würde.

Eine Studie aus Großbritannien untersuchte unter anderem Darminhalte von an Botulismus erkrankten Rindern, wobei in 50 % (37/74) der untersuchten Ausbrüche *C. botulinum* Typ D oder BoNT D nachweisbar waren^[65]. Der direkte Nachweis von BoNT D gelang in 24 dieser Ausbrüche, wobei in einem Ausbruch zusätzlich BoNT C festgestellt wurde. In den übrigen Ausbrüchen wurde *C. botulinum* Typ D nachgewiesen.

Souillard et al.^[66] untersuchten den Kot von gesunden Rindern aus Frankreich und konnten in 4,7 % (3/64) der Proben *C. botulinum* Typ C/D nachweisen.

Klarmann wies 1989^[67] in einer von 25 Kotproben von Rindern *C. botulinum* nach, ohne dass ein Toxintyp bestimmt werden konnte.

3.1.3.2.2 Vorkommen der Agenzien in Gülleproben

Neuhaus et al. untersuchten im Rahmen von Fragestellungen zur Sicherheit der Biogas-Herstellung 24 Gülleproben aus Milchviehbetrieben in Deutschland auf das Vorhandensein von *C. botulinum* Typ A, B, C, D und E sowie den zugehörigen Toxinen^[68]. Sie verwendeten einen ELISA (Enzyme-linked Immunosorbent Assay) zum Nachweis der Toxine und detektierten hiermit in jeweils einer Probe BoNT A oder E und in zwei Proben BoNT D. Außerdem wurden in zwei Proben Sporen von *C. botulinum* Typ D sowie in drei Proben *C. botulinum* Typ E nachgewiesen. Die Bedeutung dieser Studie für die Bewertung des Kontaminationsrisikos der Rohmilch ist fragwürdig. Gülle besteht aus Urin und Kot von landwirtschaftlichen Nutztieren und wird bis zur weiteren Verwendung in großen Güllesilos gelagert. Außerdem können Futterreste und/oder Einstreu in die Gülle gelangen. Da *C. botulinum* ubiquitär vorkommt, wäre ein Eintrag in die Gülle also nicht nur aus dem Rinderkot, sondern auch über die Umwelt möglich. Zudem wurde der Zeitpunkt der Probenahme in der Publikation nicht ausreichend spezifiziert. Denkbar wäre deshalb, dass BoNT auch erst bei der Lagerung im Güllesilo gebildet wurden.

3.1.3.3 Einfluss der Milch-Verarbeitung

Bisher liegen keine Anhaltspunkte dafür vor, dass BoNT beim Melken direkt in die Rohmilch gelangen, auch nicht in von Botulismus-Fällen betroffenen landwirtschaftlichen Betrieben. Ein indirekter Eintrag von *C. botulinum*-Sporen - insbesondere über Kot – ist hingegen möglich. Abschätzungen zum Eintrag von *C. botulinum*-Sporen in Rohmilch ergeben, dass über gesunde Milchviehbestände, d.h. in Beständen mit geringen *C. botulinum*-Sporengehalten im Kot, nur sehr geringe Mengen an *C. botulinum* in die Rohmilch gelangen, d. h. weniger als eine Spore/Zelle pro Liter Milch^[69]. Während eines Botulismus-Ausbruchs im Milchviehbestand ist es jedoch möglich, dass über den indirekten Eintrag durch äußerlich verschmutzte Euter beim Melkvorgang auch größere Mengen an *C. botulinum*-Sporen in den Rohmilchtank des betroffenen landwirtschaftlichen Betriebes gelangen könnten.

Es gibt nur wenige Studien zum Vorkommen von *C. botulinum* oder dessen BoNT in Milch aus dem Handel. Eine italienische Studie^[42] wies in 35 Rohmilch- und 13 pasteurisierten Milchproben weder *C. botulinum* noch dessen Toxine nach. Ebenso konnten Kautter et al.^[70] in 90 Vollmilchproben keine *C. botulinum* oder BoNT nachweisen.

Für die folgende Expositionsschätzung in der Phase „Rohmilchverarbeitung“ ist daher primär relevant, ob sich möglicherweise in geringer Anzahl vorhandene *C. botulinum*-Sporen während der Verarbeitung vermehren und BoNT bilden könnten.

3.1.3.3.1 Milchgewinnung, -lagerung und -transport

In Deutschland gab es im Jahr 2020 mehr als drei Millionen Milchkühe, die ca. 33 Millionen Tonnen Rohmilch produzierten. Die durchschnittliche Jahres-Milchleistung lag bei 8.457 Litern Milch pro Kuh^[71]. Milchkühe produzieren in Deutschland im Durchschnitt ca. 28 Liter Milch pro Tag (mit Höchstleistungen von bis zu 60 Litern pro Tag, in Abhängigkeit vom Laktationsstadium) über einen Zeitraum von ca. 10 Monaten (ca. 305 Tage)^[72].

Auf dem landwirtschaftlichen Betrieb wird die Milch unmittelbar nach dem Melken, bei dem sie eine Temperatur von ca. 37 °C hat, schnellstmöglich in Hofmilchtanks heruntergekühlt und gelagert. Bei der Zwischenlagerung im Hofmilchtank findet bereits eine erste Verdünnung eventuell vorhandener *C. botulinum*-Sporen und/oder Zellen statt, wobei das Ausmaß der Verdünnung von der Anzahl der gemolkenen Kühe und der Größe des Hofmilchtanks abhängt. Die Größe der Hofmilchtanks liegt zwischen ca. 300 bis 30.000 Litern. Die Rohmilch muss auf dem Hof bei täglicher Abholung gemäß Verordnung (EG) Nr. 853/2004 unverzüglich auf eine Temperatur von max. 8 °C und bei nicht-täglicher Abholung auf max. 6 °C heruntergekühlt werden. Die Vorgaben der Wirtschaftsbeteiligten geben allerdings häufig eine Abkühlung auf max. 4 °C innerhalb von zwei Stunden vor.

Die Milch wird täglich bzw. spätestens am Tag nach dem Melken mit speziellen Milchtankwagen abgeholt und zur Milchsammelstelle oder zum Verarbeitungsbetrieb bzw. der Molkerei transportiert. Das Volumen der Milchtankwagen liegt bei ca. 20.000 bis 26.000 Litern Milch. Während der Beförderung muss die Kühlkette aufrechterhalten werden, so dass die Milch beim Eintreffen im Bestimmungsbetrieb eine Temperatur von max. 10 °C aufweist. Die Temperaturvorgaben sollen gewährleisten, dass es bei der Lagerung und beim Transport von Rohmilch nicht zu einer Vermehrung von Mikroorganismen kommt.

In der Molkerei wird die Rohmilch unmittelbar auf 4 °C (rechtliche Vorgabe nach Verordnung (EG) Nr. 853/2004: max. 6 °C) heruntergekühlt und bis zur Verarbeitung in Silotanks mit einem Fassungsvermögen von circa 100.000 bis 500.000 Litern bei 4 °C (max. 6 °C) gelagert.

Dies hat zur Folge, dass sich die Gehalte der in die Rohmilch eingetragenen Agenzien (hier *C. botulinum*-Sporen) durch Verdünnungseffekte, ausgehend vom Hofmilchtank über den Transport im Milchtankwagen bis zur Zwischenlagerung in der Molkerei, erheblich reduzieren. Darüber hinaus hemmt die Kühlung der Rohmilch das Auskeimen der Sporen sowie die Vermehrung und Toxinbildung von *C. botulinum*.

Die Kühlung führt jedoch weder zum Absterben von *C. botulinum*, noch würde sie zu einer signifikanten Inaktivierung vorhandener BoNT führen^[73]. Da bereits der BoNT-Eintrag in die Rohmilch praktisch ausgeschlossen werden kann, hat dies für die mögliche Exposition des Menschen keine Relevanz.

3.1.3.3.2 Wärmebehandlung

Wärmebehandlungsverfahren dienen dazu, in Rohmilch möglicherweise vorhandene Krankheitserreger abzutöten und die Haltbarkeit der Milch zu verlängern. Gängige Verfahren in

Molkereien sind die Pasteurisation und die UHT-Behandlung. Bei der Pasteurisation wird die Rohmilch für ca. 30 min auf 60–62 °C (Dauererhitzung, heute kaum noch gebräuchlich) bzw. für 15–20 Sekunden (s) auf 70–72 °C (Kurzzeiterhitzung) erhitzt. Rechtlich möglich ist auch jede andere Zeit-Temperatur-Kombination mit gleicher Wirkung. Bei der UHT-Behandlung erfolgt eine kurzzeitige Erhitzung auf eine Temperatur von mindestens 135 °C. Eine weitere gängige Wärmebehandlung ist die Hochpasteurisation, die zur Verlängerung der Haltbarkeit der sogenannten Extended Shelf Life (ESL)-Milch verwendet wird. Hierbei findet eine Erhitzung auf 125–138 °C für 2–4 s statt mit anschließender Kühlung bei max. 7 °C.

Auf Grund der Prozesstemperaturen kann ausgeschlossen werden, dass sich *C. botulinum* in diesen Prozessschritten in der Milch vermehrt. Vielmehr ist davon auszugehen, dass eventuell vorhandene vegetative *C. botulinum*-Zellen sowohl bei der Pasteurisation als auch bei der UHT-Behandlung vollständig abgetötet werden.

Etwaig enthaltene BoNT werden durch die genannten Prozesse ebenfalls signifikant inaktiviert. Eine von Schneider^[73] durchgeführte Studie ergab, dass sowohl ein Dauererhitzen (62 °C für 30 min) als auch die Kurzzeiterhitzung von Milch (hier 72 °C für 20 s) bereits zu einem deutlichen Absinken der Toxingehalte führt. Allerdings wurde auch beobachtet, dass nach Behandlung für 2 min bei 72 °C noch geringe Toxinmengen nachweisbar blieben. Nach Ergebnissen einer Studie von Weingart et al.^[74] wurden durch die üblichen Pasteurisationsbedingungen von 72 °C für 15 s mindestens 99,99 % BoNT A und 99,5 % BoNT B inaktiviert.

Gleichwohl hat auch diese Studie einen ausgeprägten bi-phasischen Verlauf der Inaktivierung in Abhängigkeit von der Prozessdauer aufgezeigt. In einer Studie von Rasooly et al.^[75] konnte durch eine Milchpasteurisation mit 63 °C für 30 min BoNT A inaktiviert werden, nicht jedoch BoNT B.

Weder die Pasteurisationsprozesse noch das übliche kurze Abkochen von Rohmilch ab Hof sind ausreichend, um *C. botulinum*-Sporen abzutöten (siehe D-Werte ^[7-10] und Veröffentlichung von Deeth and Lewis^[76]). Im Gegensatz dazu ist davon auszugehen, dass im Prozess der UHT-Behandlung auch möglicherweise vorhandene *C. botulinum*-Sporen vollständig abgetötet werden (mind. 12D Reduktion)^[76,77].

Zusammenfassend kann festgestellt werden, dass die Pasteurisation, Hochpasteurisation und das kurze Abkochen von Rohmilch vegetative *C. botulinum*-Zellen sicher abtöten. Indes lassen sich *C. botulinum*-Sporen nur mittels UHT-Behandlung sicher abtöten. Alle vier genannten Wärmebehandlungsverfahren wären außerdem geeignet, vorhandene BoNT zu inaktivieren.

3.1.3.3.3 Herstellung von Milcherzeugnissen

Lindström et al.^[20] haben in ihrem Review den möglichen Eintrag von *C. botulinum* sowie dessen Überleben, Vermehrung und Toxinbildung bei der Herstellung und Lagerung von Milcherzeugnissen bewertet. Gemäß ihrer Einschätzung sind eine Vermehrung von *C. botulinum* und BoNT-Bildung in Milcherzeugnissen, die gekühlt oder gefroren gelagert werden (z. B. pasteurisierte Milch, Milcheis), stark gesäuert sind (Sauermilcherzeugnisse) oder einen niedrigen Wassergehalt besitzen (Butter, Milchpulver) in der Regel nicht zu erwarten. Hingegen könnte es bei der Käseherstellung zu Bedingungen kommen, die eine Vermehrung von *C. botulinum* und BoNT-Bildung begünstigen.

In Deutschland ist jedoch davon auszugehen, dass die Sporengehalte in Rohmilch vor der gewerblichen Käseherstellung generell kontrolliert und/oder durch technologische Verfahren (z. B. Baktofugation, Mikrofiltration) reduziert werden. Alternativ wird nur Milch aus Betrieben, die auf eine Verfütterung von Silage verzichten, zur Käseherstellung verwendet.

Denn insbesondere bei Silagefütterung muss mit einer Belastung der Rohmilch mit sogenannten käseschädlichen Clostridien gerechnet werden. Bereits 50 Clostridien-Sporen pro Liter Milch können zum Verderb der Käse durch Fehlgärungen und andere Käsefehler führen^[78,79].

Da die Sporen eine höhere spezifische Dichte aufweisen als Magermilch und Rahm, können diese bei der Baktofugation mittels Zentrifugalkraft aus der Rohmilch entfernt werden^[80]. Hersteller von sogenannten Entkeimungs-Separatoren werben damit, dass sich die Sporengehalte in der Rohmilch mit diesen Geräten um bis zu zwei Logstufen reduzieren lassen.

3.1.4 Risikocharakterisierung

Gemäß Verordnung (EG) Nr. 853/2004 darf Rohmilch nur von Tieren stammen, deren allgemeiner Gesundheitszustand gut ist und die keine Anzeichen von Krankheiten aufweisen, welche eine Kontamination der Milch zur Folge haben könnten. Aufgrund der typischen Symptome erscheint es sehr unwahrscheinlich, dass Kühe mit akutem Botulismus nicht erkannt werden und ihre Milch für die Lebensmittelgewinnung verwendet wird.

Auf Basis der in den vorangegangenen Abschnitten dargestellten Daten und Informationen ist es außerdem sehr unwahrscheinlich, dass BoNT durch direkte Sekretion oder fäkale Verunreinigung in die Rohmilch gelangen. Weiterhin kann ein direkter Eintrag von *C. botulinum* (vegetative Zellen und Sporen) aus dem Euter in die Milch ausgeschlossen werden. Allerdings können auch gesunde Rinder *C. botulinum*-Sporen in geringen Mengen mit dem Kot ausscheiden, so dass es grundsätzlich möglich ist, dass beim Melken Sporen über fäkale Verunreinigungen in die Milch gelangen.

Es ist zu erwarten, dass in einem Betrieb mit akuten Botulismus-Fällen im Milchviehbestand das Futter nicht nur BoNT enthält, sondern auch größere Mengen an *C. botulinum*-Sporen. Damit steigt auch die Wahrscheinlichkeit eines Eintrags von *C. botulinum*-Sporen in die Rohmilch.

Wenn bei Milchkühen akute Botulismus-Fälle auftreten, besteht eine sehr große Wahrscheinlichkeit, dass diese durch BoNT C oder BoNT D verursacht werden. Aber bisher hatten diese Toxine für den Botulismus beim Menschen fast keine Bedeutung, so dass das Risiko durch *C. botulinum*-Sporen des Typs C oder D zu erkranken, sehr gering ist. Es kann jedoch nicht ausgeschlossen werden, dass Kühe mit dem Futter auch *C. botulinum*-Sporen der Typen A, B, E oder F aufnehmen und mit dem Kot ausscheiden ohne Erkrankungssymptome zu zeigen, sodass die Milch dieser Tiere in die Lebensmittelkette gelangt.

Deshalb wird nachfolgend anhand von drei Szenarien das Verbraucherrisiko charakterisiert.

Szenarium 1: Ein Betrieb, in dessen Milchviehbestand Fälle von akutem Botulismus aufgetreten sind, verkauft Rohmilch gesunder Kühe direkt an Verbraucherinnen und Verbraucher.

Es ist möglich, dass die Tankmilch aus diesem Betrieb größere Mengen an *C. botulinum*-Sporen (geschätzte Gehalte bis zu 100 Sporen/ml) enthält, welche auch durch

ein Abkochen der Milch nicht abgetötet werden würden. Gesundheitliche Beeinträchtigungen durch die Aufnahme der Sporen sind für die gesunde Normalbevölkerung nicht zu erwarten. Hingegen könnten sich die Sporen unter Umständen bei Säuglingen und Menschen mit stark geschädigter Darmflora im Darm ansiedeln und dort BoNT bilden.

Auch in der Milch und daraus hergestellten Milcherzeugnissen wären eine Vermehrung von *C. botulinum* und eine Bildung von BoNT unter Umständen möglich, z. B. wenn die Rohmilch während der weiteren Verarbeitung in großen Mengen längere Zeit ungekühlt aufbewahrt wird.

Deshalb sind humane Botulismus-Erkrankungen durch den Verzehr von Rohmilch aus diesem Betrieb und daraus hergestellten Milcherzeugnissen sehr unwahrscheinlich. Einzelne Fälle von Botulismus könnten aber theoretisch, in Abhängigkeit vom gebildeten Toxin und verzehrten Milcherzeugnis, auftreten und tödlich verlaufen.

Szenarium 2: Rohmilch von Milchviehbeständen, in denen Fälle von akutem Botulismus aufgetreten sind, gelangt ohne weitere Behandlung in die Lebensmittelkette.

Es ist möglich, dass die Tankmilch von diesen Beständen größere Mengen an *C. botulinum*-Sporen (geschätzte Gehalte bis zu 100 Sporen/ml) enthält. Durch Verdünnungseffekte beim Transport und durch Lagerung in der Molkerei würde der Sporengehalt deutlich reduziert werden. Die üblichen Wärmebehandlungsverfahren bei der Herstellung von pasteurisierter Milch, Sauermilcherzeugnissen, Butter, Milchpulver oder Käse würden jedoch nicht ausreichen, um die *C. botulinum*-Sporen abzutöten.

Gesundheitliche Beeinträchtigungen durch die Aufnahme der Sporen sind für die gesunde Normalbevölkerung nicht zu erwarten. Das gesundheitliche Risiko für die Bevölkerung ist abhängig von der Möglichkeit einer BoNT-Bildung im Rahmen der weiteren Verwendung der Rohmilch und vom BoNT-Typ. Eine Vermehrung von *C. botulinum* und eine BoNT-Bildung sind in Milcherzeugnissen, die gekühlt oder gefroren gelagert werden (z. B. pasteurisierte Milch, Milcheis), stark gesäuert sind (Sauermilcherzeugnisse) oder einen niedrigen Wassergehalt besitzen (Butter, Milchpulver) nicht zu erwarten. Deshalb wären Botulismus-Fälle durch den Verzehr dieser Milcherzeugnisse sehr unwahrscheinlich.

Hingegen könnte es bei der Käseherstellung zu Bedingungen kommen, die eine Vermehrung von *C. botulinum* und eine BoNT-Bildung begünstigen. Allerdings ist zu erwarten, dass der anaerobe Sporengehalt in der Käsereimilch im Rahmen der gewerblichen Käseherstellung kontrolliert bzw. zur Vermeidung von Käsefehlern generell durch technologische Verfahren reduziert wird.

Botulismus-Fälle des Menschen sind deshalb sehr unwahrscheinlich. Sie könnten nur in extrem seltenen Ausnahmesituationen in Abhängigkeit vom gebildeten Toxin und verzehrten Milcherzeugnis auftreten.

Szenarium 3: Rohmilch von Milchviehbeständen, in denen Fälle von akutem Botulismus aufgetreten sind, wird vor dem Verzehr ultrahocherhitzt.

Durch UHT-Behandlung werden in der Milch vorhandene Sporen von *C. botulinum* abgetötet. Deshalb sind durch den Verzehr von UHT-Milch oder daraus hergestellten Milcherzeugnissen keine Botulismus-Erkrankungen zu erwarten.

Botulismus-Fälle des Menschen können theoretisch nur auftreten, wenn bei hohem Sporengehalt in der Rohmilch zugleich die notwendigen Temperatur-Zeit-Kombinationen der UHT-Behandlung unterschritten würden. Denn das Abtöten von vegetativen Bakterien in der Milch und die meist längerfristige ungekühlte Lagerung von UHT-Milcherzeugnissen könnten die Vermehrung von *C. botulinum* und eine Bildung von BoNT begünstigen. Ein Unterschreiten der notwendigen Temperatur-Zeit-Kombinationen würde jedoch aufgrund der zeitgleichen Vermehrung von aeroben Sporenbildnern mit hoher Wahrscheinlichkeit zu einem Verderb der UHT-Milcherzeugnisse führen, so dass ein Verzehr unwahrscheinlich ist.

3.1.4.1 Bewertung der Qualität der Daten

Die größten Unsicherheiten bestehen hinsichtlich der angewandten Untersuchungsmethoden zum BoNT-Nachweis. Goldstandard ist nach wie vor ein Maus-Bioassay, welcher aus ethischen Gründen und im Hinblick auf den Aufwand einer Versuchstierhaltung nur von wenigen Laboren in Einzelfällen durchgeführt werden kann. Immunologische Verfahren, wie z. B. der ELISA, können oft erst größere Mengen und nicht alle relevanten BoNT-Subtypen nachweisen. Dies führt dazu, dass die in der Literatur angegebenen Zahlen zum Vorkommen der BoNT vorsichtig zu bewerten sind, sofern nicht Maus-Bioassays gemäß den internationalen Empfehlungen zum BoNT-Nachweis verwendet wurden. Die Möglichkeit von falsch-negativen Ergebnissen beim BoNT-Nachweis kann einen großen Einfluss auf die Risikobewertung von Botulismus durch Milch und Milcherzeugnisse haben. Allerdings versuchten nur wenige der in dieser Stellungnahme bewerteten Studien tatsächlich BoNT nachzuweisen, weshalb Unsicherheiten durch einen unzuverlässigen Nachweis von geringer Relevanz sind. Zusätzlich würden bereits vorhandene und nicht nachgewiesene präformierte BoNT in der Rohmilch zwischen Erzeugerbetrieb und Molkerei einer starken Verdünnung unterliegen und bei einer Pasteurisierung ausreichend inaktiviert werden.

Vorliegende Studien zeigen, dass im Kot von Rindern keine BoNT, aber Sporen von *C. botulinum* zu finden sind. Große Unsicherheiten bestehen bei der Schätzung der Menge an *C. botulinum*-Sporen im Rinderkot und in der Tankmilch von Milchviehbeständen mit Fällen von akutem Botulismus.

Darüber hinaus bestehen Unsicherheiten hinsichtlich der Möglichkeit einer Vermehrung und Toxinbildung von *C. botulinum* in Milcherzeugnissen und damit auch hinsichtlich deren Bedeutung als Auslöser von humanem Botulismus. In der Literatur besteht dennoch Einigkeit darüber, dass Milch und Milcherzeugnisse sehr selten mit Botulismus-Fällen des Menschen assoziiert sind.

Sehr geringe Unsicherheiten gibt es bezüglich der Eigenschaften und Pathogenese von *C. botulinum* bzw. der BoNT, dem Einfluss der UHT-Behandlung auf das Überleben von *C. botulinum*-Sporen und dem Verzehr der betrachteten Lebensmittel.

3.1.4.2 Forschungsbedarf

Die identifizierten und bewerteten Unsicherheiten haben nur einen geringen Einfluss auf das Ergebnis der vorliegenden Risikobewertung. Deshalb wird kein dringender Forschungsbedarf abgeleitet.

Allerdings rät das BfR, die vielversprechenden Arbeiten zum Ersatz des Maus-Bioassays als Nachweismethode für BoNT fortzuführen. Dies wäre eine wichtige Voraussetzung, um durch geeignete Studien bestehende Datenlücken schließen zu können.

3.2 Handlungsrahmen, Empfehlungen von Maßnahmen

Bisher wurden keine Botulismus-Fälle des Menschen im Zusammenhang mit dem Verzehr von Milch und Milcherzeugnissen in Deutschland berichtet. Weltweit traten zwar einzelne Ausbrüche und Botulismus-Fälle nach dem Verzehr von Milch und Milcherzeugnissen auf. Sie wurden aber zumindest teilweise durch eine nachträgliche Kontamination und/oder fehlerhafte Lagerung verursacht. Deshalb wird das Risiko, in Deutschland durch den Verzehr von Milch und Milcherzeugnissen an Botulismus zu erkranken, als sehr gering eingeschätzt. Diese Einschätzung gilt auch, wenn Milch gesunder Kühe verarbeitet wird, die von einem Betrieb mit akuten Botulismus-Fällen im Milchviehbestand stammt.

Das verbleibende Risiko ließe sich durch folgende Maßnahmen noch weiter minimieren:

- Gute Silage-Qualität
- Gute Melkhygiene
- Technologische Reduktion und Kontrolle der anaeroben Sporengehalte in der Käse-reimilch
- UHT-Behandlung der Tankmilch aus einem Betrieb mit akuten Botulismus-Fällen im Milchviehbestand während des Ausbruchs und für mindestens einen Monat nach dessen Ende vor der weiteren Verarbeitung
- Kein Verkauf von Rohmilch direkt an Verbraucherinnen und Verbraucher während des Ausbruchs im Milchviehbestand und für mindestens zwei Monate nach dessen Ende.

Weitere Informationen auf der BfR-Website zum Thema Botulismus:

Fragen und Antworten zu Botulismus: https://www.bfr.bund.de/de/fragen_und_antworten_zu_botulismus-70355.html

Merkblatt „Schutz vor Botulismus durch Lebensmittel“: https://www.bfr.bund.de/cm/350/hinweise_fuer_verbraucher_zum_botulismus_durch_lebensmittel.pdf

4 Referenzen

- 1 Verordnung (EG) Nr. 853/2004 des Europäischen Parlaments und des Rates vom 29. April 2004 mit spezifischen Hygienevorschriften für Lebensmittel tierischen Ursprungs (ABl. L 139 vom 30.4.2004, S. 55). 2004
- 2 Deutsche Gesellschaft für Ernährung e.V. (DGE): 12. Ernährungsbericht. DGE, 2012.
- 3 Rings DM: Clostridial disease associated with neurologic signs: tetanus, botulism, and enterotoxemia. Vet Clin North Am Food Anim Pract 2004;20:379-391, vii-viii.

- 4 Smart JL, Jones TO, Clegg FG, McMurtry MJ: Poultry waste associated type C botulism in cattle. *Epidemiol Infect* 1987;98:73-79.
- 5 Messelhäußer U: Clostridium botulinum - Band 1: "Vorkommen, Bedeutung und Erkrankungsformen". Hamburg, Behr's Verlag GmbH & Co. K.G., 2015.
- 6 Kim J, Foegeding PM: Principles of Control in Clostridium botulinum; in Hauschild AHW, and Dodds, K.L. (ed): Clostridium botulinum - Ecology and Control in Foods. Boca Raton, CRC Press, 1993, pp 121-176.
- 7 Brown KL: Control of bacterial spores. *Brit Med Bull* 2000;56:158-171.
- 8 van Asselt ED, Zwietering MH: A systematic approach to determine global thermal inactivation parameters for various food pathogens. *International Journal of Food Microbiology* 2006;107:73-82.
- 9 Stone G, Chapman B, Lovell D: Development of a log-quadratic model to describe microbial inactivation, illustrated by thermal inactivation of Clostridium botulinum. *Appl Environ Microbiol* 2009;75:6998-7005.
- 10 Diao MM, Andre S, Membre JM: Meta-analysis of D-values of proteolytic Clostridium botulinum and its surrogate strain Clostridium sporogenes PA 3679. *Int J Food Microbiol* 2014;174:23-30.
- 11 Bundesinstitut für Risikobewertung (BfR): Kritischer als Gammelfleisch: Toxinbildende Bakterien und ihre Giftstoffe in Fleisch und Fleischerzeugnissen: Stellungnahme Nr 004/2006 des BfR 2005,
- 12 Pellett S, Tepp WH, Bradshaw M, Kalb SR, Dykes JK, Lin G, Nawrocki EM, Pier CL, Barr JR, Maslanka SE, Johnson EA: Purification and Characterization of Botulinum Neurotoxin FA from a Genetically Modified Clostridium botulinum Strain. *mSphere* 2016;1
- 13 Maslanka SE, Luquez C, Dykes JK, Tepp WH, Pier CL, Pellett S, Raphael BH, Kalb SR, Barr JR, Rao A, Johnson EA: A Novel Botulinum Neurotoxin, Previously Reported as Serotype H, Has a Hybrid-Like Structure With Regions of Similarity to the Structures of Serotypes A and F and Is Neutralized With Serotype A Antitoxin. *J Infect Dis* 2016;213:379-385.
- 14 Hill KK, Smith TJ: Genetic diversity within Clostridium botulinum serotypes, botulinum neurotoxin gene clusters and toxin subtypes. *Curr Top Microbiol Immunol* 2013;364:1-20.
- 15 Bundesministerium für Ernährung Landwirtschaft und Verbraucherschutz (BMELV): Beitrag zur frühzeitigen Erkennung bioterroristischer Angriffe auf die Lebensmittelkette - Ein Handbuch. Bundesministerium für Ernährung, Landwirtschaft und Verbraucherschutz (BMELV), 2011.
- 16 Smart JL, Rush PAJ: Invitro Heat Denaturation of Clostridium-Botulinum Toxins Types A, B and C. *Int J Food Sci Tech* 1987;22:293-298.
- 17 Woodburn MJ, Somers E, Rodriguez J, Schantz EJ: Heat Inactivation Rates of Botulinum Toxin-a, Toxin-B, Toxin-E and Toxin-F in Some Foods and Buffers. *J Food Sci* 1979;44:1658-1661.
- 18 Siegel LS: Destruction of botulinum toxins in food and water; in Hauschild AHW, and Dodds, K.L. (ed): Clostridium Botulinum : Ecology and Control in Foods Food Science and Technology. Boca Raton, CRC Press, 1993, pp 323–332.
- 19 Rasetti-Escargueil C, Lemichez E, Popoff MR: Public Health Risk Associated with Botulism as Foodborne Zoonoses. *Toxins (Basel)* 2019;12:17.
- 20 Lindström M, Myllykoski J, Sivela S, Korkeala H: Clostridium botulinum in cattle and dairy products. *Crit Rev Food Sci Nutr* 2010;50:281-304.
- 21 Sonnabend O, Sonnabend W, Heinzele R, Sigrist T, Dirnhofer R, Krech U: Isolation of Clostridium botulinum type G and identification of type G botulinum toxin in humans: report of five sudden unexpected deaths. *J Infect Dis* 1981;143:22-27.

- 22 Robert Koch-Institut: Infektionsepidemiologisches Jahrbuch meldepflichtiger Krankheiten für 2009. Berlin, 2010.
- 23 Robert Koch-Institut: Infektionsepidemiologisches Jahrbuch meldepflichtiger Krankheiten für 2010. Berlin, 2011.
- 24 Robert Koch-Institut: Infektionsepidemiologisches Jahrbuch meldepflichtiger Krankheiten für 2011. Berlin, 2012.
- 25 Robert Koch-Institut: Infektionsepidemiologisches Jahrbuch meldepflichtiger Krankheiten für 2012. Berlin, 2013.
- 26 Robert Koch-Institut: Infektionsepidemiologisches Jahrbuch meldepflichtiger Krankheiten für 2013. Berlin, 2014.
- 27 Robert Koch-Institut: Infektionsepidemiologisches Jahrbuch meldepflichtiger Krankheiten für 2014. Berlin, 2015.
- 28 Robert Koch-Institut: Infektionsepidemiologisches Jahrbuch meldepflichtiger Krankheiten für 2015. Berlin, 2016.
- 29 Robert Koch-Institut: Infektionsepidemiologisches Jahrbuch meldepflichtiger Krankheiten für 2016. Berlin, 2017.
- 30 Robert Koch-Institut: Infektionsepidemiologisches Jahrbuch meldepflichtiger Krankheiten für 2017. Berlin, 2018.
- 31 Robert Koch-Institut: Infektionsepidemiologisches Jahrbuch meldepflichtiger Krankheiten für 2018. Berlin, 2019.
- 32 Robert Koch-Institut: Infektionsepidemiologisches Jahrbuch meldepflichtiger Krankheiten für 2019. Berlin, 2020.
- 33 Robert Koch-Institut: Infektionsepidemiologisches Jahrbuch meldepflichtiger Krankheiten für 2020. Berlin, 2021.
- 34 European Food Safety Authority (EFSA), European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC): The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2014, European Food Safety Authority (EFSA) and European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC), 2015, 13, pp 190.
- 35 European Food Safety Authority (EFSA), European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC): The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2015, EFSA (European Food Safety Authority) and ECDC (European Centre for Disease Prevention and Control), 2016, 14, pp 231.
- 36 European Food Safety Agency (EFSA), European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC): The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2016, EFSA (European Food Safety Agency) and ECDC (European Centre for Disease Prevention and Control), 2017, 15, pp 228.
- 37 European Food Safety Authority (EFSA), European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC): The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2017, EFSA (European Food Safety Authority) and ECDC (European Centre for Disease Prevention and Control), 2018, 16, pp 262.
- 38 European Food Safety Authority (EFSA), European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC): The European Union One Health 2018 Zoonoses Report, EFSA (European Food Safety Authority) and ECDC (European Centre for Disease Prevention and Control), 2019, 17, pp 276.
- 39 European Food Safety Authority (EFSA), European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC): The European Union One Health 2019 Zoonoses Report, EFSA

(European Food Safety Authority) and ECDC (European Centre for Disease Prevention and Control), 2021, 19, pp 286.

40 European Food Safety Authority (EFSA), European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC): The European Union One Health 2020 Zoonoses Report, EFSA (European Food Safety Authority) and ECDC (European Centre for Disease Prevention and Control), 2021, 19, pp 324.

41 Aureli P, Di Cunto M, Maffei A, De Chiara G, Franciosa G, Accorinti L, Gambardella AM, Greco D: An outbreak in Italy of botulism associated with a dessert made with mascarpone cream cheese. *Eur J Epidemiol* 2000;16:913-918.

42 Franciosa G, Pourshaban M, Gianfranceschi M, Gattuso A, Fenicia L, Ferrini AM, Mannoni V, De Luca G, Aureli P: Clostridium botulinum spores and toxin in mascarpone cheese and other milk products. *J Food Prot* 1999;62:867-871.

43 Ferraretto LF, Shaver RD, Luck BD: Silage review: Recent advances and future technologies for whole-plant and fractionated corn silage harvesting. *J Dairy Sci* 2018;101:3937-3951.

44 Notermans S, Dufrenne J, Oosterom J: Persistence of *Clostridium botulinum* Type B on a Cattle Farm after an Outbreak of Botulism. *Applied and Environmental Microbiology* 1981;41:179-183.

45 Payne JH, Hogg RA, Otter A, Roest HI, Livesey CT: Emergence of suspected type D botulism in ruminants in England and Wales (2001 to 2009), associated with exposure to broiler litter. *Vet Rec* 2011;168:640.

46 Livesey CT, Sharpe RT, Hogg RA: Recent association of cattle botulism with poultry litter. *Vet Rec* 2004;154:734-735.

47 Braun U: Botulismus beim Rind. *Schweiz Arch Tierheilkd* 2006;148:331-339.

48 Frye EA, Egan C, Perry MJ, Crouch EE, Burbank KE, Kelly KM: Outbreak of botulism type A in dairy cows detected by MALDI-TOF mass spectrometry. *J Vet Diagn Invest* 2020;32:722-726.

49 Böhnel H, Schwagerick B, Gessler F: Visceral botulism-a new form of bovine Clostridium botulinum toxication. *J Vet Med A Physiol Pathol Clin Med* 2001;48:373-383.

50 Stiftung Tierärztliche Hochschule Hannover (TiHo): Bedeutung von Clostridium botulinum bei chronischem Krankheitsgeschehen und Teilprojekt: Mikrobiologisches Risikopotenzial von Biogasanlagen unter besonderer Berücksichtigung von Hühnertrockenkot als Gärsubstrat, 2014,

51 Seyboldt C, Discher S, Jordan E, Neubauer H, Jensen KC, Campe A, Kreienbrock L, Scheu T, Wichern A, Gundling F, DoDuc P, Fohler S, Abdulmawjood A, Klein G, Hoedemaker M: Occurrence of Clostridium botulinum neurotoxin in chronic disease of dairy cows. *Vet Microbiol* 2015;177:398-402.

52 Böhnel H, Neufeld B, Gessler F: Botulinum neurotoxin type B in milk from a cow affected by visceral botulism. *Vet J* 2005;169:124-125.

53 Böhnel H, Gessler F: Presence of Clostridium botulinum and botulinum toxin in milk and udder tissue of dairy cows with suspected botulism. *Vet Rec* 2013;172:397.

54 Bundesamt für Verbraucherschutz (BVL): Untersuchung von Lebensmitteln - Nachweis von Clostridium botulinum und Botulinum-Toxin in Fleisch und Fleischerzeugnissen (Übernahme der gleichlautenden Norm DIN 10 102, Ausgabe Juni 1988); Amtliche Sammlung von Untersuchungsverfahren nach § 35 LMBG, 1988

55 Cook LV, Lee WH, Lattuada CP, Ransom GM: Methods for the Detection of Clostridium botulinum Toxins in Meat and Poultry Products; US Department of Agriculture, Food Safety and Inspection Service, USDA/FSIS Microbiology Laboratory Guidebook 3rd Edition, USDA (U.S. Department of Agriculture), FSIS (Food Safety and Inspection Service), 1998

- 56 Centers for Disease Control and Prevention (CDC): Botulism in the United States, 1899 - 1996, Handbook for Epidemiologists, Clinicians, and Laboratory Workers. Atlanta, GA., CDC, 1998.
- 57 Solomon HM, Lilly JT: Clostridium botulinum; US Food and Drug Administration, Bacteriological Analytical Manual, FDA, 2001
- 58 Cobb SP, Hogg RA, Challoner DJ, Brett MM, Livesey CT, Sharpe RT, Jones TO: Suspected botulism in dairy cows and its implications for the safety of human food. Vet Rec 2002;150:5-8.
- 59 Moeller RB, Jr., Puschner B, Walker RL, Rocke TE, Smith SR, Cullor JS, Ardans AA: Short communication: Attempts to identify Clostridium botulinum toxin in milk from three experimentally intoxicated Holstein cows. J Dairy Sci 2009;92:2529-2533.
- 60 Dahlenborg M, Borch E, Radstrom P: Prevalence of Clostridium botulinum types B, E and F in faecal samples from Swedish cattle. Int J Food Microbiol 2003;82:105-110.
- 61 Abdel-Moein KA, Hamza DA: Occurrence of human pathogenic Clostridium botulinum among healthy dairy animals: an emerging public health hazard. Pathog Glob Health 2016;110:25-29.
- 62 Schmid A, Messelhäuser U, Hormansdorfer S, Sauter-Louis C, Mansfeld R: Occurrence of zoonotic clostridia and Yersinia in healthy cattle. J Food Prot 2013;76:1697-1703.
- 63 Fohler S, Discher S, Jordan E, Seyboldt C, Klein G, Neubauer H, Hoedemaker M, Scheu T, Campe A, Charlotte Jensen K, Abdulmawjood A: Detection of Clostridium botulinum neurotoxin genes (A-F) in dairy farms from Northern Germany using PCR: A case-control study. Anaerobe 2016;39:97-104.
- 64 Allison MJ, Maloy SE, Matson RR: Inactivation of Clostridium botulinum toxin by ruminal microbes from cattle and sheep. Appl Environ Microbiol 1976;32:685-688.
- 65 Payne JH, Hogg RA, Otter A, Roest HIJ, Livesey CT: Emergence of suspected type D botulism in ruminants in England and Wales (2001 to 2009), associated with exposure to broiler litter. Vet Rec 2011;168:640.
- 66 Souillard R, Le Marechal C, Hollebecque F, Rouxel S, Barbe A, Houard E, Leon D, Poezevara T, Fach P, Woudstra C, Mahe F, Chemaly M, Le Bouquin S: Occurrence of C. botulinum in healthy cattle and their environment following poultry botulism outbreaks in mixed farms. Vet Microbiol 2015;180:142-145.
- 67 Klarmann D: Nachweis von Clostridium botulinum in Kotproben von Rind und Schwein sowie in Rohmaterialien und Tiermehlen verschiedener Tierkörperbeseitigungsanstalten. Berl Munch Tierarztl 1989;3:084-086.
- 68 Neuhaus J, Schrod W, Shehata AA, Kruger M: Detection of Clostridium botulinum in liquid manure and biogas plant wastes. Folia Microbiol (Praha) 2015;60:451-456.
- 69 Collins-Thompson DL, Wood DS: Control in Dairy Products; in Hauschild AHW, and Dodds, K.L. (ed): Clostridium botulinum - Ecology and Control in Foods. Boca Raton, CRC Press, 1993, pp 261-277.
- 70 Kautter DA, Lilly T, Solomon HM, Lynt RK: Clostridium-Botulinum Spores in Infant Foods - a Survey. J Food Protect 1982;45:1028-1029.
- 71 Bundesanstalt für Landwirtschaft und Ernährung (BLE): Bericht zur Markt- und Versorgungslage mit Milch und Milcherzeugnissen; in Ernährung BfLu (ed), BLE, 2021, pp - 181.
- 72 Tetra Pak: Handbuch der Milch- und Molkereitechnik. Tetra Pak Processing Systems AB, Sweden, 2019.
- 73 Schneider D: Entwicklung und Etablierung verschiedener Nachweisverfahren für Clostridium botulinum und aktiver Toxinnachweis mit ELISA-Verfahren in unterschiedlichen

Lebensmittelmatrizes sowie Untersuchungen zur Stabilität der Toxine (Dissertation).

Fachbereich Biologie, Chemie, Pharmazie, Freie Universität Berlin, 2013, pp 191.

74 Weingart OG, Schreiber T, Mascher C, Pauly D, Dorner MB, Berger TF, Egger C, Gessler F, Loessner MJ, Avondet MA, Dorner BG: The case of botulinum toxin in milk: experimental data. *Appl Environ Microbiol* 2010;76:3293-3300.

75 Rasooly R, Do PM: *Clostridium botulinum* neurotoxin type B is heat-stable in milk and not inactivated by pasteurization. *J Agric Food Chem* 2010;58:12557-12561.

76 Deeth H, Lewis MJ: High temperature processing of milk and milk products. Chichester, UK ; Hoboken, NJ, Wiley/Blackwell, 2017.

77 Pujol L, Albert I, Magras C, Johnson NB, Membre JM: Probabilistic exposure assessment model to estimate aseptic-UHT product failure rate. *Int J Food Microbiol* 2015;192:124-141.

78 Jakob E, Glauser DL: Vergleich von Methoden zur Bestimmung der Buttersäurebakterien in Milch. *Agrarforschung Schweiz* 2019;10:388-395.

79 Jakob E, Eugster E: Lebensmittelsicherheit von Käse: Verfahren zur Behandlung der Käsereimilch. *Agrarforschung Schweiz* 2016;7:476-483.

80 Buckenhüskes HJ: Herstellung von ESL-Milch. Frankfurt a. M., DLG e.V. - Fachzentrum Ernährungswirtschaft, 2014.

Über das BfR

Das Bundesinstitut für Risikobewertung (BfR) ist eine wissenschaftlich unabhängige Einrichtung im Geschäftsbereich des Bundesministeriums für Ernährung und Landwirtschaft (BMEL). Es berät die Bundesregierung und die Bundesländer zu Fragen der Lebensmittel-, Chemikalien- und Produktsicherheit. Das BfR betreibt eigene Forschung zu Themen, die in engem Zusammenhang mit seinen Bewertungsaufgaben stehen.